

PCT/FR2004/050352

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 A61K33/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the International search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, MEDLINE, EMBASE, BIOSIS, CHEM ABS Data, WPI Data, PAJ

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	FR 2 596 989 A (AIR LIQUIDE) 16 October 1987 (1987-10-16) cited in the application claims 1,6,7 page 1, line 45 - line 46	11,12
Y	WO 00/53192 A (PETZELT CHRISTIAN ;KOX WOLFGANG J (DE); AGA AB (SE)) 14 September 2000 (2000-09-14) claims	1-15
	----- -/--	

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

T later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

X document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

Y document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

Z document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

17 January 2005

Date of mailing of the international search report

25/01/2005

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Leherte, C

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	<p>LICHTIGFELD F J ET AL: "Psychotropic analgesic nitrous oxide and neurotransmitter mechanisms involved in the alcohol withdrawal state." THE INTERNATIONAL JOURNAL OF NEUROSCIENCE. ENGLAND MAY 1994, vol. 76, no. 1-2, May 1994 (1994-05), pages 17-33, XP008028205 ISSN: 0020-7454 cited in the application abstract</p>	1-15
Y	<p>US 6 274 633 B1 (FRANKS NICHOLAS PETER ET AL) 14 August 2001 (2001-08-14) cited in the application abstract</p>	1-15
A	<p>EP 0 861 672 A (PANINA ELENA VLADIMIROVNA) 2 September 1998 (1998-09-02) cited in the application column 3, paragraph 6; claims 1,6</p>	1-15
X,P	<p>DAVID H N ET AL: "REDUCTION OF ISCHEMIC BRAIN DAMAGE BY NITROUS OXIDE AND XENON" JOURNAL OF CEREBRAL BLOOD FLOW AND METABOLISM, RAVEN PRESS, LTD., NEW YORK, NY, US, vol. 23, no. 10, 1 October 2003 (2003-10-01), pages 1168-1173, XP008027594 ISSN: 0271-678X the whole document</p>	1-15

Information on patent family members

PCT/FR2004/050352

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
FR 2596989	A	16-10-1987	FR 2596989 A1	16-10-1987
			AT 55904 T	15-09-1990
			AU 7098387 A	15-10-1987
			DE 3764532 D1	04-10-1990
			EP 0244285 A1	04-11-1987
			US 4820258 A	11-04-1989
			ZA 8702643 A	25-11-1987
WO 0053192	A	14-09-2000	DE 19910986 A1	21-09-2000
			AT 248599 T	15-09-2003
			AU 757361 B2	20-02-2003
			AU 3287500 A	28-09-2000
			BG 105889 A	30-04-2002
			BR 0010456 A	27-08-2002
			CA 2367136 A1	14-09-2000
			CN 1359296 T	17-07-2002
			CZ 20013234 A3	12-06-2002
			DE 60004974 D1	09-10-2003
			DE 60004974 T2	22-07-2004
			DK 1158992 T3	29-12-2003
			EE 200100480 A	16-12-2002
			WO 0053192 A1	14-09-2000
			EP 1158992 A1	05-12-2001
			ES 2206202 T3	16-05-2004
			HU 0201393 A2	28-09-2002
			JP 2002538209 A	12-11-2002
			MD 20010349 A	28-02-2002
			NO 20014379 A	07-11-2001
			PL 350618 A1	27-01-2003
			PT 1158992 T	30-01-2004
			SI 1158992 T1	29-02-2004
			SK 12792001 A3	02-07-2002
			US 2003180375 A1	25-09-2003
			US 6559190 B1	06-05-2003
			ZA 200107291 A	03-12-2002
US 6274633	B1	14-08-2001	AU 778097 B2	18-11-2004
			AU 6173500 A	19-02-2001
			CA 2280310 A1	29-01-2001
			EP 1200103 A1	02-05-2002
			WO 0108692 A1	08-02-2001
			JP 2003505512 T	12-02-2003
			US 2002068764 A1	06-06-2002
EP 0861672	A	02-09-1998	ZA 200200539 A	22-07-2002
			RU 2072241 C1	27-01-1997
			AU 7232396 A	09-04-1997
			CA 2266455 A1	27-03-1997
			EA 203 B1	24-12-1998
			EP 0861672 A1	02-09-1998
			US 6536429 B1	25-03-2003
			CN 1202833 A ,B	23-12-1998
			WO 9710869 A1	27-03-1997

PCT/FR2004/050352

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE
CIB 7 A61K33/00

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)

CIB 7 A61K

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)

EPO-Internal, MEDLINE, EMBASE, BIOSIS, CHEM ABS Data, WPI Data, PAJ

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	FR 2 596 989 A (AIR LIQUIDE) 16 octobre 1987 (1987-10-16) cité dans la demande revendications 1,6,7 page 1, ligne 45 - ligne 46	11,12
Y	WO 00/53192 A (PETZELT CHRISTIAN ; KOX WOLFGANG J (DE); AGA AB (SE)) 14 septembre 2000 (2000-09-14) revendications	1-15

☒ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

☒ Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

* Catégories spéciales de documents cités:

- *A* document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- *E* document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- *L* document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- *O* document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- *P* document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

T document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention

X document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément

Y document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier

Z document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

17 janvier 2005

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

25/01/2005

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale

Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax (+31-70) 340-3018

Fonctionnaire autorisé

Leherte, C

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		
Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
Y	<p>LICHTIGFELD F J ET AL: "Psychotropic analgesic nitrous oxide and neurotransmitter mechanisms involved in the alcohol withdrawal state." THE INTERNATIONAL JOURNAL OF NEUROSCIENCE. ENGLAND MAY 1994, vol. 76, no. 1-2, mai 1994 (1994-05), pages 17-33, XP008028205 ISSN: 0020-7454 cité dans la demande abrégé</p>	1-15
Y	<p>US 6 274 633 B1 (FRANKS NICHOLAS PETER ET AL) 14 août 2001 (2001-08-14) cité dans la demande abrégé</p>	1-15
A	<p>EP 0 861 672 A (PANINA ELENA VLADIMIROVNA) 2 septembre 1998 (1998-09-02) cité dans la demande colonne 3, alinéa 6; revendications 1,6</p>	1-15
X,P	<p>DAVID H N ET AL: "REDUCTION OF ISCHEMIC BRAIN DAMAGE BY NITROUS OXIDE AND XENON" JOURNAL OF CEREBRAL BLOOD FLOW AND METABOLISM, RAVEN PRESS, LTD., NEW YORK, NY, US, vol. 23, no. 10, 1 octobre 2003 (2003-10-01), pages 1168-1173, XP008027594 ISSN: 0271-678X le document en entier</p>	1-15

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
FR 2596989	A	16-10-1987	FR 2596989 A1	16-10-1987
			AT 55904 T	15-09-1990
			AU 7098387 A	15-10-1987
			DE 3764532 D1	04-10-1990
			EP 0244285 A1	04-11-1987
			US 4820258 A	11-04-1989
			ZA 8702643 A	25-11-1987
WO 0053192	A	14-09-2000	DE 19910986 A1	21-09-2000
			AT 248599 T	15-09-2003
			AU 757361 B2	20-02-2003
			AU 3287500 A	28-09-2000
			BG 105889 A	30-04-2002
			BR 0010456 A	27-08-2002
			CA 2367136 A1	14-09-2000
			CN 1359296 T	17-07-2002
			CZ 20013234 A3	12-06-2002
			DE 60004974 D1	09-10-2003
			DE 60004974 T2	22-07-2004
			DK 1158992 T3	29-12-2003
			EE 200100480 A	16-12-2002
			WO 0053192 A1	14-09-2000
			EP 1158992 A1	05-12-2001
			ES 2206202 T3	16-05-2004
			HU 0201393 A2	28-09-2002
			JP 2002538209 A	12-11-2002
			MD 20010349 A	28-02-2002
			NO 20014379 A	07-11-2001
			PL 350618 A1	27-01-2003
			PT 1158992 T	30-01-2004
			SI 1158992 T1	29-02-2004
			SK 12792001 A3	02-07-2002
			US 2003180375 A1	25-09-2003
			US 6559190 B1	06-05-2003
			ZA 200107291 A	03-12-2002
US 6274633	B1	14-08-2001	AU 778097 B2	18-11-2004
			AU 6173500 A	19-02-2001
			CA 2280310 A1	29-01-2001
			EP 1200103 A1	02-05-2002
			WO 0108692 A1	08-02-2001
			JP 2003505512 T	12-02-2003
			US 2002068764 A1	06-06-2002
EP 0861672	A	02-09-1998	ZA 200200539 A	22-07-2002
			RU 2072241 C1	27-01-1997
			AU 7232396 A	09-04-1997
			CA 2266455 A1	27-03-1997
			EA 203 B1	24-12-1998
			EP 0861672 A1	02-09-1998
			US 6536429 B1	25-03-2003
			CN 1202833 A ,B	23-12-1998
			WO 9710869 A1	27-03-1997

Médicament gazeux inhalable à base de xénon et de protoxyde d'azote

L'invention porte sur l'utilisation d'un mélange gazeux contenant du xénon et du
5 protoxyde d'azote (N₂O) pour fabriquer tout ou partie d'un médicament inhalable destiné à
traiter ou à prévenir une pathologie à effet neurotoxique, c'est-à-dire une neuro-intoxication,
notamment les effets neurotoxiques de drogues ou autres substances générant une addiction.

Dans les pathologies liées aux effets neurotoxiques des drogues générant une
addiction, telles les amphétamines, il est admis que la neurotransmission dopaminergique
10 d'origine nigrostriatale et mésolimbique participe des effets psycho-stimulants et
neurotoxiques de ces drogues.

Cependant, des travaux récents de Del Arco et al., Neuropharmacology, 38: 943,
1999, ont montré que les effets facilitateurs des amphétamines ne se limitent pas à la
neurotransmission dopaminergique.

15 Ainsi, au niveau du complexe striatum-noyau accumbens, les amphétamines
induisent non seulement une augmentation de la libération de dopamine mais également une
augmentation de la libération de sérotonine, de taurine, d'acide γ -amino-butérique (GABA), et
de glutamate.

De façon particulièrement intéressante, il a été montré que l'inhibition spécifique des
20 transporteurs du glutamate permet de diminuer à la fois l'hyperactivité (David, Thévenoux et
Abraini, Neuropharmacology, 2001) et l'augmentation de glutamate, mais pas de dopamine
(Del Arco et al., Neuropharmacology 38: 943, 1999), consécutives à l'injection
d'amphétamines, suggérant ainsi un rôle déterminant du glutamate dans les effets
psychostimulants des amphétamines.

25 Par ailleurs, des travaux récents, réalisés in vitro, ont montré que le xénon et le
protoxyde d'azote (N₂O) peuvent se comporter comme des antagonistes de faible affinité des
récepteurs glutamatergiques au N-Méthyl-D-Aspartate (NMDA ; Franks et al., Nature 396:
324, 1998; Jevtovic-Todorovic et al., Nature Med. 4: 460, 1998).

En outre, dans le cadre de l'étude du système opioïde hyperalgésique endogène dans
30 la réponse placebo négative, F.J. Lichtigfeld et M.A. Gillman, Intern. J. Neuroscience, 1989,
vol. 49, p. 71-74 concluent à un effet du protoxyde d'azote sur le sevrage alcoolique un peu

meilleur que l'effet placebo, bien que, pour plus de 50% des individus, un effet positif identique a aussi été constaté avec le placebo.

Toutefois, les mêmes auteurs ajoutent, dans Nitous Oxide and the Aws, p. 785, que l'effet bénéfique du protoxyde d'azote dépendant étroitement de sa concentration car des
5 concentrations anesthésiques ou pré-anesthésiques sont inefficaces, voire même contre-productives dans certains cas ; une concentration analgésique étant recommandée.

Encore une autre publication de ces auteurs, parue dans Intern. J. Neuroscience, 1994, Vol. 76, p. 17 -33, souligne les effets rapides et durables du protoxyde d'azote analgésique psychotropique dans le mécanisme de sevrage alcoolique.

10 Dans Postgrad. Med. J, Clinical Toxicology, 1990, 66, p. 543-546, les mêmes auteurs expliquent que les concentrations en protoxyde d'azote peuvent varier de moins de 15% à plus de 70% selon les individus et ce, en fonction de leur degré de dépendance à l'alcool.

Par ailleurs, le document EP-A-1158992 enseigne l'utilisation de xénon ou d'un mélange de xénon avec de l'oxygène, de l'azote ou de l'air pour traiter les neuro-intoxications.
15 Toutefois, l'utilisation de xénon ou des mélanges décrits par ce document n'est pas totalement satisfaisante en pratique, notamment du fait de l'apparition d'une toxicité pour certaines teneurs en xénon et compte tenu du coût élevé de ce composé.

Par ailleurs, US-A-6,274,633 enseigne l'utilisation de xénon en tant que composé antagoniste des récepteurs NMDA présumés impliqués dans la neurotoxicité et la mort des
20 cellules neuronales causées par certaines maladies ou les hypoxies ischémiques ou consécutives à un arrêt cardiaque notamment.

En outre, EP-A-861672 propose des mélanges gazeux inhalables à base d'oxygène et de plusieurs gaz possibles dont le xénon.

Enfin, FR-A-2596989 propose des mélanges gazeux à base de protoxyde d'azote et
25 d'oxygène, pouvant éventuellement contenir du xénon ou d'autres gaz, en tant que produits de radio-sensibilisation, notamment utilisables en radiothérapie du cancer.

La présente invention s'inscrit dans ce contexte et vise à améliorer les médicaments inhalables existant destinés à prévenir ou traiter efficacement un état d'addiction chez l'être
humain, c'est-à-dire tout trouble, désordre ou pathologie lié aux effets neurotoxiques, en
30 particulier aux effets neurotoxiques de drogues générant une addiction.

La solution de l'invention porte alors sur l'utilisation d'un mélange gazeux contenant du xénon (Xe) gazeux et du protoxyde d'azote (N₂O) gazeux pour fabriquer tout ou partie d'un médicament inhalable destiné à prévenir ou à traiter une neuro-intoxication chez l'homme, la proportion volumique de xénon étant comprise entre 5 et 45% et la proportion volumique de
5 protoxyde d'azote étant comprise entre 10 et 50%.

Selon le cas, l'utilisation de l'invention peut comprendre l'une ou plusieurs des caractéristiques techniques suivantes :

- la neuro-intoxication résulte d'un excès cérébral d'un ou plusieurs neurotransmetteurs.
- 10 - le mélange contenant du xénon et du protoxyde d'azote agit sur au moins un récepteur cérébral de manière à diminuer les effets et/ou la libération de dopamine, glutamate, sérotonine, taurine, GABA, noradrénaline et/ou de tout autre neurotransmetteur.
- la proportion volumique de xénon est comprise entre 20 et 40% et la proportion volumique de protoxyde d'azote est comprise entre 10 et 40 %.
- 15 - la proportion volumique de xénon est comprise entre 20 et 32% et la proportion volumique de protoxyde d'azote est comprise entre 20 et 40 %, de préférence les proportions volumiques de xénon et de protoxyde d'azote sont chacune de l'ordre de 30%.
- la proportion volumique de xénon est comprise entre 10 et 20% et la proportion volumique de protoxyde d'azote est comprise entre 40 et 50 %, de préférence la proportion
20 volumique de xénon est de l'ordre de 16 % et la proportion volumique de protoxyde d'azote est de l'ordre de 50%.
- le médicament contient, en outre, de l'oxygène, un mélange oxygène/azote ou de l'air, de préférence le mélange gazeux est constitué de xénon, de protoxyde d'azote et d'oxygène pour le reste.
- 25 - la neuro-intoxication est du type engendrant un état d'addiction, c'est-à-dire un trouble, un désordre ou une pathologie lié aux effets neurotoxiques d'une drogue, molécule ou substance générant une addiction, une dépendance et/ou une accoutumance chez l'homme ou l'animal. La substance, drogue ou molécule générant l'addiction est choisie dans le groupe formé par les amphétamines et leurs dérivés, la cocaïne, le tabac, l'alcool et le cannabis, ou
30 toute autre drogue similaire ou analogue.

- le médicament inhalable est conditionné à une pression de 2 bars à 350 bars, de préférence entre 2 bars et 200 bars.

- le médicament est prêt-à-l'emploi, c'est-à-dire qu'il peut être administré au patient directement sans subir de pré-dilution.

5 L'invention porte aussi sur un médicament inhalable gazeux contenant de 5 à 35% en volume de xénon et de 10 et 50 % en volume de protoxyde d'azote, et éventuellement de l'oxygène.

Selon le cas, le mélange gazeux de l'invention peut comprendre l'une ou plusieurs des caractéristiques techniques suivantes :

10 - il est constitué de 5 à 32% en volume xénon, de 10 et 50 % de protoxyde d'azote, et d'oxygène pour le reste.

- il est constitué de 20 à 32% en volume xénon, de 20 et 40 % de protoxyde d'azote, et d'oxygène pour le reste, de préférence les proportions volumiques de xénon et de protoxyde d'azote sont chacune de l'ordre de 30%.

15 - il est constitué de 10 à 20% en volume xénon, de 45 et 50 % de protoxyde d'azote et d'oxygène pour le reste, de préférence la proportion volumique de xénon est de l'ordre de 16% et la proportion volumique de protoxyde d'azote est de l'ordre de 50%.

Autrement dit, l'idée à la base de la présente invention est donc que les propriétés antagonistes des récepteurs NMDA du xénon et du protoxyde d'azote peuvent être utilisées, de manière combinée ou synergique, pour leur caractère neuro-protecteur dans la prévention et/ou le traitement des troubles ou désordres liés aux effets neurotoxiques, en particulier des effets neurotoxiques des drogues générant une addiction, telles que les amphétamines et leurs dérivés, la cocaïne, le tabac, l'alcool, le cannabis ou tout autre substance engendrant une dépendance, notamment tout ou partie d'un médicament gazeux inhalable.

25 De façon générale, le médicament selon l'invention est administrable au patient par ses voies aériennes supérieures, c'est-à-dire par inhalation via son nez et/ou sa bouche, au moyen d'un dispositif d'administration adapté comprenant une interface respiratoire patient, tel qu'un masque respiratoire ou une sonde trachéale, une ou plusieurs canalisations d'alimentation servant à acheminer le médicament gazeux depuis une source contenant ledit médicament
30 jusqu'à l'interface, et un ventilateur médical servant à envoyer et/ou extraire le gaz du patient.

L'invention porte aussi sur une méthode pour prévenir ou pour traiter une neuro-intoxication chez un patient humain, dans laquelle on administre par inhalation audit patient, un mélange gazeux contenant du xénon gazeux et du protoxyde d'azote gazeux, la proportion volumique de xénon dans ledit mélange gazeux étant comprise entre 5 et 45% et la proportion
5 volumique de protoxyde d'azote étant comprise entre 10 et 50%.

Exemples : Mise en évidence du potentiel neuroprotecteur du xénon et du protoxyde d'azote

Afin d'évaluer le potentiel neuroprotecteur du xénon et du protoxyde d'azote gazeux,
10 dont les propriétés antagonistes des récepteurs glutamatergiques de type NMDA ont été récemment mis en évidence, sur la sensibilisation aux amphétamines, des études comportementales, neurochimiques et histologiques ont été réalisées comme décrit ci-après.

Des rats mâles Sprague-Dawley d'un poids d'environ 250 g ont été utilisés durant les expériences.

15 Durant les tests, le protocole de sensibilisation à la d-amphétamine et les essais de traitement au protoxyde d'azote et au xénon ont été les suivants.

15 groupes d'animaux (de 7 ou 8 animaux chacun) ont été utilisés, dont 10 groupes lors des études de sensibilisation proprement dites et 5 autres groupes pendant les études histologiques des neurones des cortex cingulé postérieur et rétrosplénial.

20 Les animaux ont été injectés par voie intra-péritonéale (i.p.) pendant 3 jours consécutifs de J1 à J3, avec de la d-amphétamine (Amph ; 1 mg/ml/kg) ou, selon le cas, une solution saline (1 ml/kg) pour les animaux témoins.

Après chaque injection, les rats étaient immédiatement placés pendant 3 heures dans une enceinte close, d'un volume de 100 litres, balayée en régime dynamique à un débit
25 constant de 5 l.min⁻¹, soit par de l'air (Groupe 1 : saline ; Groupe 2 : Amph), soit par du protoxyde d'azote à 50% en volume (Groupe 3 : saline ; Groupe 4 : Amph) ou 75 % (Groupe 5 : saline ; Groupe 6 : Amph), soit par du xénon à 50 % en volume (Groupe 7 : saline ; Groupe 8 : Amph) ou 75 % (Groupe 9 : saline ; Groupe 10 : Amph); le reste des mélanges (complément à 100%) étant de l'oxygène.

30 Afin d'identifier le potentiel neurotoxique éventuel de l'exposition répétée (3h par jour pendant 3 heures) au protoxyde d'azote ou au xénon au niveau des cortex cingulé postérieur

et rétrospécial, 5 groupes supplémentaires d'animaux ont été prétraités, selon un protocole identique à celui défini ci-dessus, par administration d'une solution saline puis exposés soit à de l'air (Groupe 11), soit à du protoxyde d'azote à 50 ou 75 % (Groupes 12 et 13), soit à du xénon à 50 ou 75 % (Groupes 14 et 15).

5 L'activité locomotrice des animaux des groupes 1 à 10 a été évaluée à J6, après une injection i.p. d'une solution saline (1 ml/kg), et à J7 après une injection i.p. de d-amphétamine (1 mg/ml/kg). L'activité locomotrice des animaux en réponse à ces injections a été enregistrée au moyen de cages d'actimétrie à cellules photoélectriques (Imétronic, Pessac, France).

Par ailleurs, des études neurochimiques, en plus des études histologiques et
10 comportementales ci-dessus, ont été réalisées sur des tranches des cerveaux de ces rats afin d'identifier les mécanismes de l'action du protoxyde d'azote et du xénon, et afin d'évaluer le potentiel neurotoxique du protoxyde d'azote et du xénon.

Pour ce faire, après traitement, les animaux étaient sacrifiés à J8 par décapitation sous anesthésie générale à l'halothane, puis la boîte crânienne immédiatement placée dans
15 une solution de paraformaldéhyde pendant une semaine. Le cerveau était prélevé, enrobé dans la paraffine et sectionné en coupes frontales de 4 µm montées sur lames gélatinées et colorées avec une solution hémalum-éosine-safran. Les cortex cingulé postérieur et rétrospécial ont été analysés au microscope optique (x 400).

En outre, la préparation des tranches de noyau accumbens a été opérée comme suit.
20 Les animaux ont été décapités sous anesthésie légère à l'halothane, puis le cerveau rapidement prélevé. Des sections frontales de 300 µm, correspondant à une antériorité de +0.70/1.20 mm (par rapport au Bregma, Paxinos et Watson, 1998), ont été prélevées à l'aide d'un *chopper* (Mickie Laboratory Engineering Company, Gomshall, Surrey, UK). Les tranches de cerveau ont été placées pour récupération dans une solution saline tamponnée d'une
25 température de 3-4 °C pendant au moins 1 heure avant utilisation pour étude neurochimique.

La mesure de la libération de dopamine a été réalisée par la technique de voltamétrie
impulsionnelle différentielle normale au moyen d'une électrode de carbone à fibre unique d'un
diamètre de 10 µm et de longueur 250 µm (CFN10-250 ; World Precision Instruments, Aston,
Stevenage, Hertfordshire, UK). Le traitement électrochimique permettant de rendre ce type
30 d'électrode sensible à la dopamine, consistait en l'application dans une solution saline
phosphate tamponnée d'un courant continu de -1.5 V pendant 20 s, puis d'un courant

triangulaire de +2.6 V pendant également 20 s sur l'électrode de travail (Brazell *et al.*, 1987). Dans ces conditions, le signal dopaminergique apparaît à un potentiel de + 100 mV.

Les tranches de cerveau de rat étaient alors placées dans une cuve à organe et perfusées avec un liquide céphalorachidien artificiel de composition : NaCl 118mM, MgCl₂ 1.18 mM, KCl 4.9 mM, NaH₂PO₄ 1.25 mM, CaCl₂ 1.25 mM, NaHCO₃ 3.6 mM, d-glucose 10 mM, HEPES 30 mM, pH 7.4, dont la température était réglée à 34 ± 1 °C au moyen d'un contrôleur de température (Delta 4 Culture Dish Controller, Bioprotechs, Butler, PA, USA). L'électrode était placée sous contrôle microscopique (microscope EFN 600, Nikon, Paris, France), à 100 µm de la commissure antérieure, à l'aide d'un micromètre optique incorporé au microscope, puis totalement descendue dans le noyau accumbens, selon un angle de 45°, et reliée au polarographe Biopulse réglé en mode voltamétrie impulsionnelle différentielle normale aux paramètres suivants : potentiel de balayage -150+350 mV ; durée du balayage 0.4s, amplitude de balayage 4 mV, pour une vitesse de balayage de 10 mV.s⁻¹; impulsion de mesure 40 ms ; préimpulsion de mesure 70 ms ; amplitude de mesure 30 mV.

L'hyperstimulation dopaminergique était induite par adjonction au liquide de perfusion de d-amphétamine. De l'air médical, du protoxyde d'azote ou du xénon était dissous, jusqu'à saturation, avant utilisation dans le liquide de perfusion, dont le pH était réajusté à 7.4.

La d-amphétamine (d-amphétamine sulfate, ref. A5880) a été acquise après autorisation de l'unité stupéfiants et psychotropes de l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé auprès de Sigma-Aldrich (Illkirch, France).

L'air médical, le protoxyde d'azote et le xénon ont été fournis par Air Liquide Santé International (Paris, France). Les mélanges à base de protoxyde d'azote, d'oxygène et/ou de xénon ont été réalisés, au moyen de débit-litres calibrés également fournis par Air Liquide Santé International.

Les résultats obtenus, consignés sur les Figures 1 et 2 annexées, sont exprimés par la moyenne ± l'erreur standard. La comparaison des groupes a été réalisée au moyen de tests non-paramétriques : l'analyse de variance de Kruskal-Wallis, complétée en cas de résultat significatif du test U de Mann-Whitney.

Plus précisément, au niveau comportemental, les histogrammes de gauche des figures 1 et 2 illustrent le processus de sensibilisation induit par l'administration répétée de d-amphétamine puisque :

- la figure 1 représente les effets du protoxyde d'azote à 50 vol% et 75 vol% (reste oxygène) sur la sensibilisation à la d-amphétamine ; et

- la figure 2 illustre les effets du xénon à 50% et 75% sur la sensibilisation à la d-amphétamine.

5 On peut constater sur ces Figures que l'injection répétée de d-amphétamine produit une augmentation de l'activité locomotrice induite par l'injection aiguë de d-amphétamine, de sorte que l'activité locomotrice des animaux prétraités à la d-amphétamine (*amph* sur la Figure) apparaît significativement supérieure à celle des animaux témoins prétraités au moyen d'une solution saline (*saline* sur la Figure), lors du test à la d-amphétamine réalisée à
10 J7 ($P < 0.05$).

Par contre, une injection répétée de J1 à J3 de d-amphétamine ne produit aucune différence significative d'activité locomotrice entre les animaux prétraités à la d-amphétamine et les animaux témoins en réponse au test saline réalisé à J6.

Concernant la Figure 1, on constate que, dans les conditions expérimentales ci-dessus, l'exposition au protoxyde d'azote, immédiatement après le prétraitement à la d-
15 amphétamine, induit un blocage dose-dépendant du processus de sensibilisation.

Ainsi, l'activité locomotrice des animaux prétraités à la d-amphétamine et au protoxyde d'azote à 50 vol% induite par le test à la d-amphétamine réalisé à J7 n'apparaît pas significativement différente de l'activité motrice des rats prétraités par une solution saline et du
20 protoxyde d'azote à 50 vol%, ni de celle des animaux prétraités à la d-amphétamine et à l'air.

Ce résultat témoigne d'un blocage partiel du processus de sensibilisation, dans les conditions expérimentales ci-dessus.

L'exposition au protoxyde d'azote à 75 vol%, immédiatement après le prétraitement à la d-amphétamine, produit un blocage significatif du processus de sensibilisation, de sorte que
25 l'activité locomotrice des animaux prétraités à la d-amphétamine et au protoxyde d'azote à 75 vol% induite par le test à la d-amphétamine réalisé à J7 apparaît significativement inférieure à celle des animaux prétraités à la d-amphétamine et à l'air ($P < 0.05$), mais non significativement différente de celle des animaux prétraités par une solution saline et du protoxyde d'azote à 75 vol%. Par ailleurs, aucun effet 'gaz' n'a été trouvé chez les rats
30 prétraités par une solution saline lors du test à la d-amphétamine aiguë réalisé à J7, ce qui

montre que le N₂O bloque la sensibilisation à l'origine des états d'addiction et dépendance mais n'a pas d'effet sur l'administration aiguë de drogue.

De même, aucune différence significative d'activité motrice n'a été trouvée en réponse au test saline à J6, ce qui montre que les gaz n'ont pas d'effet sédatif à long terme.

5 Concernant la Figure 2, on peut voir que, dans les conditions expérimentales ci-avant, quelle que soit la concentration de xénon utilisée, soit 50 vol% ou 75 vol%, l'activité locomotrice des animaux prétraités à la d-amphétamine et au xénon induite par le challenge à la d-amphétamine réalisé à J7 produit un blocage de la sensibilisation à la d-amphétamine, de sorte que l'activité locomotrice des animaux prétraités à la d-amphétamine et au xénon
10 apparaît significativement inférieure à celle des animaux prétraités à la d-amphétamine et à l'air ($P < 0.05$), mais non différente de celle des animaux prétraités par une solution saline et du xénon.

Comme pour le protoxyde d'azote (Fig. 1), aucune différence significative d'activité locomotrice n'a été trouvée en réponse au test saline à J6, ce qui démontre là aussi que les
15 gaz n'ont pas d'effet sédatif à long terme.

Par contre, chez les animaux prétraités par une solution saline, on note une augmentation significative de la réponse à la d-amphétamine chez les animaux ayant reçu du xénon à 75 vol%, comparativement aux animaux prétraités à l'air ou au xénon à 50 vol%, ce qui pourrait rendre compte d'une sensibilisation des récepteurs NMDA et d'un possible effet
20 toxique du xénon à haute dose, c'est-à-dire de l'ordre de 75% en volume.

Par ailleurs, une étude histologique des cortex cingulé postérieur et rétroplénial montre chez les rats exposés au xénon à 75 vol% une clarification cytoplasmique généralisée associée à un aspect picnotique des noyaux cellulaires, ainsi que l'apparition chez quelques animaux de vacuoles cytoplasmiques, qui suggèrent, en accord avec l'activité motrice, un
25 effet neurotoxique de l'administration répétée, 3 jours consécutifs, de xénon à 75 vol%.

Aucun effet similaire n'a été trouvé chez des rats exposés à l'air médical, au protoxyde d'azote à 75 vol%, ou au xénon à 50 vol%.

Par ailleurs, la Figure 3 illustre les effets du protoxyde d'azote sur l'augmentation de la libération de dopamine dans le noyau accumbens induite par la d-amphétamine. Des résultats
30 identiques ont été obtenus avec du xénon à 50%.

L'adjonction de d-amphétamine à 10^{-5} M engendre une augmentation significative du signal par rapport au signal de base mesuré ($P < 0.05$).

Cette augmentation de la libération de dopamine dans le noyau accumbens est significativement réduite en présence de protoxyde d'azote à 75% ou de xénon à 50% (en vol.) dans le liquide de perfusion ($P < 0.05$).

Sans adjonction de d-amphétamine, le signal se maintient stable pendant toute la durée de l'expérience.

En définitive, les résultats obtenus montrent clairement que le protoxyde d'azote et le xénon ont des effets inhibiteurs sur la sensibilisation à la d-amphétamine et la libération de dopamine qui y est associée.

Ainsi, l'exposition simultanée des animaux au protoxyde d'azote ou au xénon lors de la phase de sensibilisation à la d-amphétamine bloque totalement, dans le cas du protoxyde d'azote à 75 vol% ou du xénon à 50 vol% et 75 vol%, l'hyperactivité locomotrice due à la sensibilisation en réponse à l'administration aiguë de d-amphétamine.

Si l'on considère que le protoxyde d'azote et le xénon ne montrent pas d'effet sur les récepteurs glutamatergiques de type AMPA (Yakamura et Harris, 2000), leurs effets inhibiteurs peuvent être attribués à leurs propriétés antagonistes des récepteurs glutamatergiques de type NMDA (Jevtovic-Todorovic *et al.*, 1998 ; Franks *et al.*, 1998 ; Yakamura *et al.*, 2000) mais aussi à leurs propriétés antagonistes des récepteurs cholinergiques de type nicotinique et à leurs propriétés agonistes des récepteurs GABAergiques de type A.

La co-administration d'antagonistes des récepteurs glutamatergiques de type NMDA avec des amphétamines permet de bloquer le processus de sensibilisation et la libération de dopamine qui y est associée.

Par ailleurs, les résultats obtenus montrent aussi que 75 vol% de protoxyde d'azote et seulement 50 vol% de xénon sont nécessaires pour bloquer le processus de sensibilisation.

Cependant, au vu des effets à la fois comportementaux et histologiques observés avec du xénon en forte teneur, une utilisation de xénon à 75 % n'est pas recommandée.

En effet, les animaux prétraités (de J1 à J3) avec une solution saline et du xénon à 75 % montrent une activité locomotrice supérieure à celle des animaux témoins prétraités saline

+ air, lors du test à la d-amphétamine (réalisé à J7), laquelle pourrait rendre compte d'une sensibilisation des récepteurs NMDA.

Par ailleurs, le xénon à 75 % engendre une clarification cytoplasmique aggravée, dans quelques cas, d'une vacuolisation des neurones des cortex cingulé postérieur et rétrosplénial, qui signe sans conteste un processus neurotoxique.

Autrement dit, le protoxyde d'azote à 75 vol. % ou le xénon à 50 vol.% et 75 vol.% bloquent le processus de sensibilisation comportementale à la d-amphétamine mais le xénon à 75 vol% induit également une augmentation de la réponse aiguë à la d-amphétamine qui pourrait traduire une modification de la sensibilité des récepteurs mis en jeu et un processus potentiellement délétère, ce qui étaye les études histologiques.

De plus, le protoxyde d'azote et le xénon à 50 vol% ou 75 vol% bloquent l'augmentation de la libération de dopamine induite par la d-amphétamine.

Tous ces résultats montrent les effets inhibiteurs incontestables du protoxyde d'azote et du xénon sur la sensibilisation à la d-amphétamine et les processus neurochimiques qui y sont associés.

De là, pour bénéficier des avantages procurés par le xénon mais sans engendrer les effets délétères ou neurotoxiques susmentionnés, en particulier dans le cas des neuropathies plus sévères présentant une composante glutamatergique excitotoxique, et sans être pénalisé par le coût élevé de ce gaz, il est alors recommandé d'utiliser non pas le xénon seul mais plutôt un mélange gazeux formé de xénon et de protoxyde d'azote, la teneur en xénon devant être maintenue très éloignée du seuil de toxicité de ce composé, c'est-à-dire typiquement inférieure ou égale à environ 60% chez l'homme (soir environ 75% chez le rat).

Ainsi, des mélanges gazeux contenant de 5 et 35% en volume de xénon gazeux et de 10 et 50% en volume de protoxyde d'azote gazeux (et d'oxygène pour le reste) sont tout à fait appropriés pour être utilisés en tant que médicament inhalable gazeux servant à prévenir ou à traiter les neuro-intoxications chez l'homme ou l'animal.

En effet, en utilisant des mélanges appropriés à base de xénon et de protoxyde d'azote, on peut bénéficier des effets de ces deux composés sans rencontrer les problèmes susmentionnés.

Le mélange gazeux de l'invention est utilisable pour traiter toutes les neuro-intoxications. Par neuro-intoxication, on entend un trouble, un désordre ou une pathologie du

système nerveux central dont l'étiopathogénie implique, au moins pour partie, un processus excito-toxique, notamment un dysfonctionnement de la neurotransmission excitatrice au glutamate ; voir notamment le document Parsons et al., Drug News Perspect., 1998, vol.11, pages 523-569.

- 5 En conséquence, entre dans le cadre de la présente invention le traitement non seulement des effets neurotoxiques de drogues ou autres substances pouvant générer une addiction comme les amphétamines et dérivés amphétaminiques, les substances opiacées et leurs dérivés, la cocaïne et ses dérivés, le tabac, le cannabis et/ou l'alcool, mais aussi des accidents cérébraux aigus comme les traumatismes crâniens et les accidents vasculaires
- 10 cérébraux (AVC), y compris l'ischémie cérébrale ; des maladies neuro-dégénératives comme la maladie d'Alzheimer, la maladie de Parkinson, la maladie (chorée) de Huntington, la sclérose latérale amyotrophique, l'encéphalomyélite aiguë disséminée, la dyskinésie tardive, et les dégénérescences olivopontocérébelleuses ; et diverses pathologies psychiatriques ou
- 15 neurologiques comme les troubles anxieux, les troubles psychotiques, notamment la schizophrénie et l'épilepsie sous ses diverses formes.

Revendications

1 – Utilisation d'un mélange gazeux contenant du xénon gazeux et du protoxyde d'azote gazeux pour fabriquer tout ou partie d'un médicament inhalable destiné à prévenir ou
5 à traiter une neuro-intoxication chez l'homme, la proportion volumique de xénon étant comprise entre 5 et 45% et la proportion volumique de protoxyde d'azote étant comprise entre 10 et 50%.

2 – Utilisation selon la revendication 1, caractérisée en ce que la neuro-intoxication résulte d'un excès cérébral d'un ou plusieurs neurotransmetteurs.

10 3 – Utilisation selon l'une des revendications 1 ou 2, caractérisée en ce que le mélange contenant du xénon et du protoxyde d'azote agit sur au moins un récepteur cérébral de manière à diminuer la libération et/ou les effets de dopamine, glutamate, sérotonine, taurine, GABA, noradrénaline et/ou de tout autre neurotransmetteur.

15 4 – Utilisation selon l'une des revendications 1 à 3, caractérisée en ce que le mélange gazeux contient de l'oxygène pour le reste.

5 – Utilisation selon l'une des revendications 1 à 4, caractérisée en ce que la proportion volumique de xénon est comprise entre 20 et 40% et la proportion volumique de protoxyde d'azote est comprise entre 10 et 40%.

20 6 – Utilisation selon l'une des revendications 1 à 5, caractérisée en ce que la proportion volumique de xénon est comprise entre 20 et 32% et la proportion volumique de protoxyde d'azote est comprise entre 20 et 40 %, de préférence les proportions volumiques de xénon et de protoxyde d'azote sont chacune de l'ordre de 30%.

25 7 – Utilisation selon l'une des revendications 1 à 4, caractérisée en ce que la proportion volumique de xénon est comprise entre 10 et 20% et la proportion volumique de protoxyde d'azote est comprise entre 40 et 50 %, de préférence la proportion volumique de xénon est de l'ordre de 16 % et la proportion volumique de protoxyde d'azote est de l'ordre de 50%.

30 8 – Utilisation selon l'une des revendications 1 à 7, caractérisée en ce que le médicament contient, en outre, de l'oxygène, un mélange oxygène/azote ou de l'air, de préférence le mélange gazeux est constitué de xénon, de protoxyde d'azote et d'oxygène pour le reste.

9 - Utilisation selon l'une des revendications 1 à 8, caractérisée en ce que le médicament est prêt-à-l'emploi.

10 - Utilisation selon l'une des revendications 1 à 9, caractérisée en ce que la neuro-intoxication est du type engendrant un état d'addiction.

5 11 - Mélange gazeux contenant de 5 à 35% en volume de xénon et de 10 et 50 % en volume de protoxyde d'azote en tant que médicament inhalable.

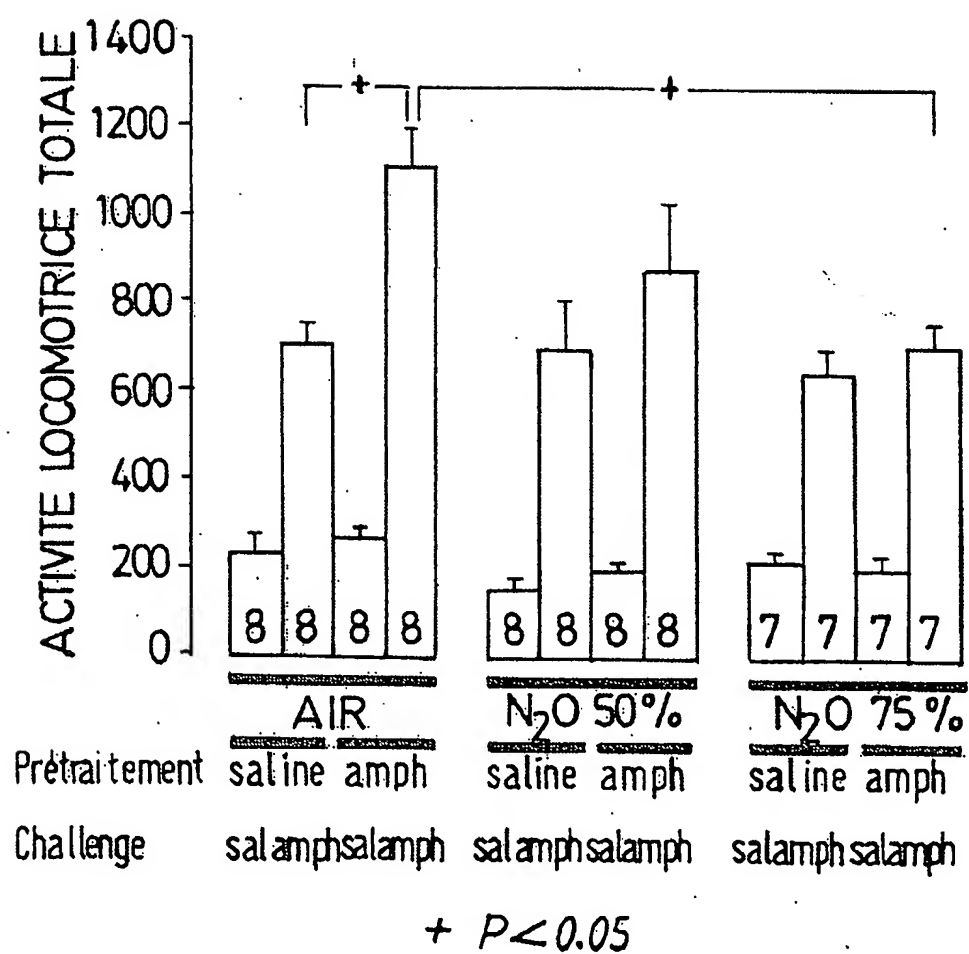
12 - Mélange gazeux selon la revendication 11, caractérisé en ce qu'il contient, en outre, de l'oxygène.

10 13 - Mélange selon l'une des revendications 11 ou 12, caractérisé en ce qu'il est constitué de 20 à 32% en volume xénon, de 20 et 40 % de protoxyde d'azote et d'oxygène pour le reste.

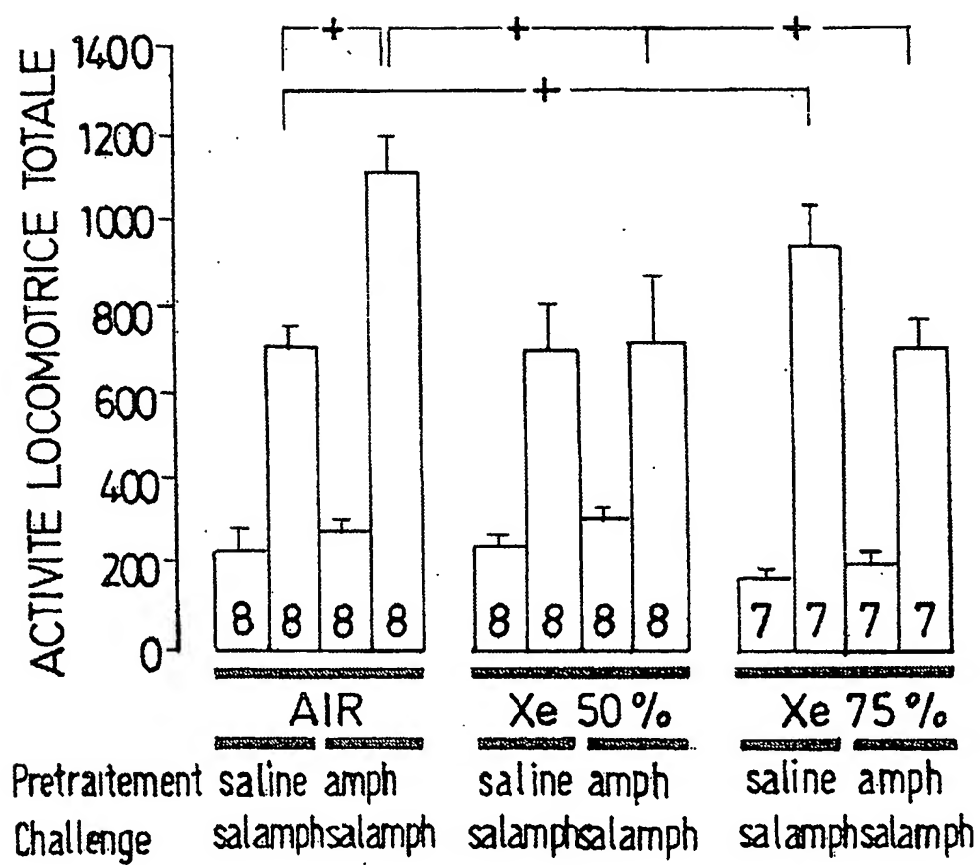
14 - Mélange selon l'une des revendications 10 à 13, caractérisé en ce que les proportions volumiques de xénon et de protoxyde d'azote sont chacune de l'ordre de 30%.

15 15 - Mélange selon l'une des revendications 11 à 13, caractérisé en ce qu'il est constitué de 10 à 20% en volume xénon, de 45 et 50 % de protoxyde d'azote et d'oxygène pour le reste, de préférence la proportion volumique de xénon est de l'ordre de 16% et la proportion volumique de protoxyde d'azote est de l'ordre de 50%.

1/3

FIG.1

2/3

 $+ P < 0.05$ FIG.2

3/3

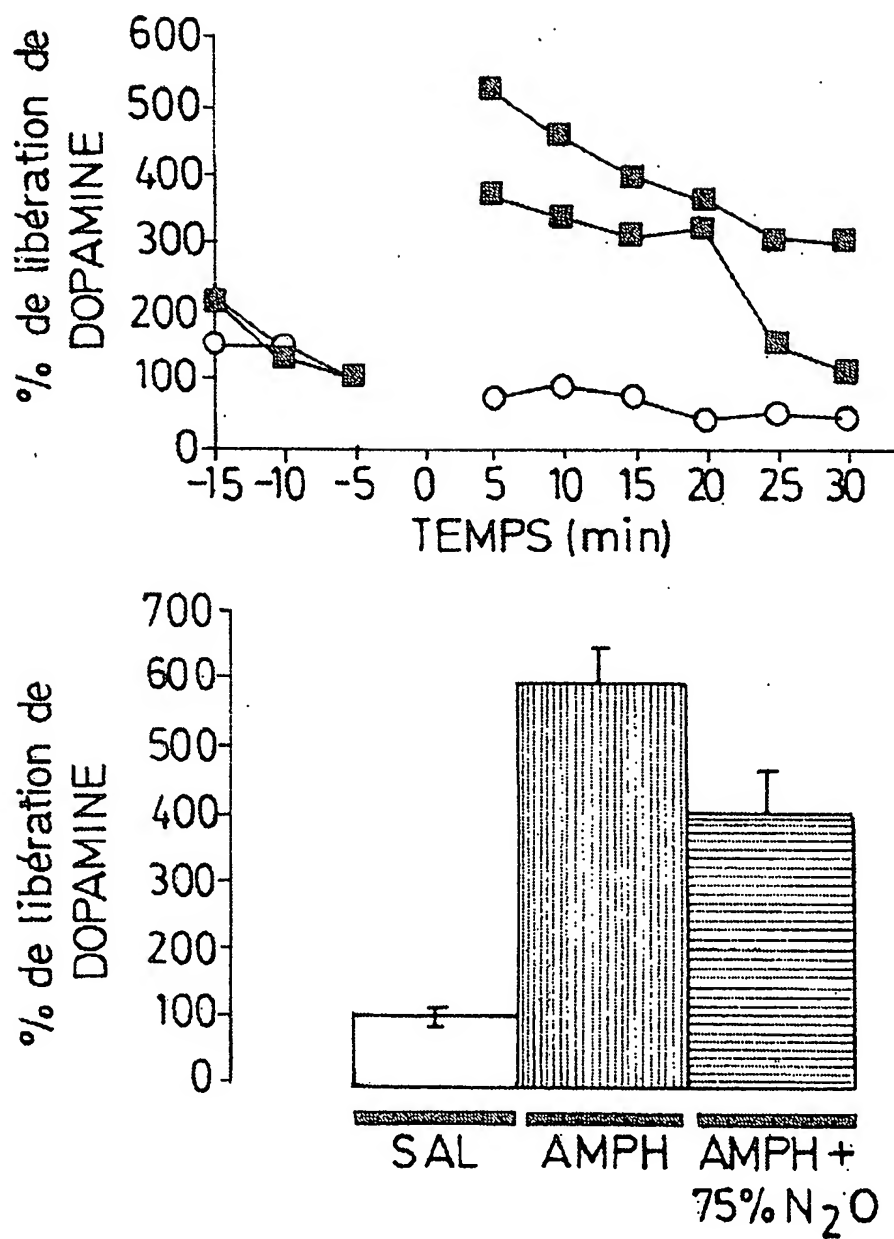


FIG.3